

法等,其中普鲁士蓝法测定总多酚较其他方法灵敏^[8]。本实验采用该方法测定总多酚时,溶液体系均一,工作曲线线性良好,故选用普鲁士蓝法。

3.2 不同的提取溶剂对多酚的提取能力有明显不同,进而会直接影响多酚含量的测定。文献报道有机溶剂和水的复合体系比较适合多酚的提取,尤以丙酮-水(1:1)最适合^[8,9]。本实验对水和丙酮-水(1:1)的提取效果进行了比较,并进行了水浴和超声提取方法比较以及提取时间的考察,最终确定以丙酮-水溶液(1:1)水浴浸提30 min作为样品提取的方法。

3.3 松果菊中的多酚类成分研究较少,对照品的购买和分离难度较大,无法用HPLC等现代手段进行定量分析。采用紫外分光光度法测定松果菊提取物中的多酚是简单可行的好方法。

References:

- [1] Hobbs C. *The Echinacea Handbook* [M]. Portland: Eclectic Medical Publications, 1989.
- [2] Li J R, Wang B, Qiao L, et al. Studies on water-soluble constituents of *Echinacea purpurea* [J]. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 2002, 37 (2): 121-123.
- [3] Li J R, Gao X F, Ai T M, et al. Lipid compounds from *Echinacea purpurea* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2002, 27 (1): 40-41.
- [4] Bauer R. Standardization of *Echinacea purpurea* expressed juice with reference to chicoric acid and alkamides [J]. *J Herbs Spices Med Plants*, 1999, (6): 51-62.
- [5] Wang H, Liu W Z, Lu X L, et al. Determination of chicoric acid in *Echinacea purpurea* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2002, 27 (6): 418-420.
- [6] Wang H, Wang X W, Chen S Z, et al. Physicochemical identification of three plants of *Echinacea Moench* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32 (10): 934-936.
- [7] Wang H, Hou J Z, Cheng S Z, et al. Studies on chemical constituents in essential oil from *Echinacea purpurea* [J]. *China Inf J Chin Tradit Med* (中国中医药信息杂志), 2002, 9 (5): 42-43.
- [8] Shi B, Di Y. *Plant Polyphenol* (植物多酚) [M]. Beijing: Science Press, 2000.
- [9] Yao X S. *Chemistry of Nature Product* (天然产物化学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1994.

紫外分光光度法测定丰城鸡血藤中总黄酮

余燕影¹, 彭志兵^{1*}, 曹树稳²

(1. 南昌大学 化学系,江西 南昌 330047; 2. 南昌大学 食品科学教育部重点实验室,江西 南昌 330047)

丰城鸡血藤,又名香花崖豆藤 *Millettia nitida* Benth. var. *hirsutissima* Z. Wei,为江西特色中药材,具有悠久的入药历史。丰城鸡血藤具有抗凝血酶、促进纤维蛋白溶解,延长优球蛋白溶解时间等作用,对凝血系统具有一定的影响;此外对肝细胞DNA具有促进复制作用,从而促进肝细胞再生,恢复肝功能^[1]。黄酮类化合物为丰城鸡血藤主要活性成分之一^[2]。目前,天然产物中黄酮类化合物的测定方法主要有高效液相色谱法^[3]和比色法^[4]。高效液相色谱法主要用于测定单一黄酮类成分;比色法主要用于测定总黄酮,而比色法大多以芦丁为对照品,采用NaNO₂-Al盐-NaOH显色体系在可见光区测定。已有文献报道此方法测定总黄酮专属性差^[5]。本实验根据丰城鸡血藤中黄酮化合物主要成分的结构特征和光谱特性,在上述方法的基础上进行改进,采用紫外分光光度法测定,结果满意。

1 仪器、试剂与材料

TU—1800 紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司)。试剂均为分析纯,所用水均为一次蒸馏水。芦丁对照品购自中国医药(集团)上海化学试剂公司。丰城鸡血藤采自江西省丰城市罗山乡,经南昌大学生物系植物教研室杨柏云教授鉴定。

2 方法与结果

2.1 测定波长的选择:将芦丁对照品和供试品溶液按实验方法操作,在200~600 nm进行波长扫描。结果表明,对照品和供试品的络合物在271 nm处有最大吸收,且光谱形状极为相似,形成的络合物在常温下稳定性较好,满足分光光度法测定的基本要求,因此,选定271 nm作为测定波长。

2.2 pH值的影响:试验了不同酸度条件下对络合物吸光度的影响,见图1。结果表明,在pH 2~11时,溶液的吸光度最大且稳定。故选在中性条件下进

收稿日期:2005-01-31

基金项目:国家自然科学基金资助项目(20262004);江西省教育厅资助项目(赣财教[2003]73号)

作者简介:余燕影(1963—),女,江西金溪人,副教授,主要从事天然产物活性成分分离分析及生物活性研究。

* 南昌大学 2004 届毕业生

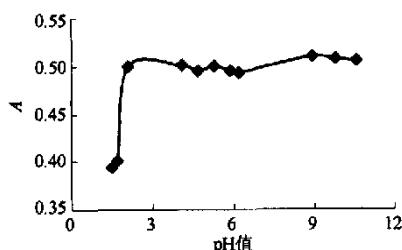


图 1 pH 值对吸光度的影响

Fig. 1 Effects of pH value on absorbance

行反应。用 $\text{NaNO}_2\text{-Al}(\text{NO}_3)_3\text{-NaOH}$ 显色体系在可见光区测定总黄酮是在强碱性条件下进行的,本法是在中性条件测定的,这与可见光法的强碱性条件相比具有较明显的优势。

2.3 硝酸铝用量选择:硝酸铝的用量对络合物的形成有一定的影响。随着硝酸铝用量的增加,溶液的吸光度也相应增加。当硝酸铝试剂用量增加到 4 mL 以后,吸光度值大且保持稳定。本实验选择 10% 硝酸铝试剂 4 mL。

2.4 测定方法:精密吸取一定量芦丁对照品或供试品溶液,置于 25 mL 比色管中,加入 10% 硝酸铝溶液 4 mL,用水稀至刻度,摇匀,放置 10 min 后,用 1 cm 比色皿以试剂空白为参比,在波长 271 nm 处测定吸光度。

2.5 标准曲线及线性范围:精密吸取 0.15、0.30、0.45、0.60、0.75 mL 芦丁对照品,按实验方法处理,测定吸光度,并随行做空白试验。得标准曲线回归方程 $A=0.0496 C-0.0114$, $r=0.99998$, 线性范围为 3~15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

2.6 供试品溶液的制备:称取一定量的鸡血藤干品按固液比 1:20 加入 90% 乙醇(含 2% 盐酸)加热回流 60 min, 提取 2 次, 残渣留下备用。合并提取液, 用 NaHCO_3 中和, 滤过, 滤液回收乙醇, 残留物即为样品 I。将上述残渣按固液比 1:20 加入 70% 乙醇加热回流 60 min, 提取 2 次, 合并提取液并回收乙醇, 残留物即为样品 II。将样品 I 按质量比 1:10 分别用醋酸乙酯和氯仿加热回流提取 60 min, 萃取液回收溶剂, 即得样品 V 和 VI。样品 II 按质量比 1:10 用醋酸乙酯加热回流提取 60 min, 萃取液回收溶剂, 即得样品 IV。另称取一定量的鸡血藤干品按固液比 1:20 加入 70% 乙醇加热回流 60 min, 提取 2

次, 合并提取液, 回收溶剂, 残留物即为样品 VI。精密称取一定量样品 I~VI, 用 70% 乙醇溶解并定容至 100 mL, 作为供试品溶液。

2.7 精密度试验: 分别精密吸取 2.00 mL, I~VI 供试品溶液各 5 份, 按实验方法操作, 测定其吸光度。结果表明, 吸光度 RSD 分别为 1.42%、0.54%、1.71%、1.32%、1.84%、1.37%。

2.8 稳定性试验: 精密吸取 I~VI 供试品溶液, 按实验方法操作, 每隔 10 min 分别测定其吸光度, 结果在 60 min 内, 吸光度 RSD 分别为 1.12%、0.17%、2.48%、0.97%、0.90%、0.23%。

2.9 回收率试验: 精密吸取 2.00 mL, I~VI 供试品溶液, 加入芦丁对照品溶液 (0.5 mg/mL) 0.4、0.4、0.3、0.3、0.3 mL 测定吸光度, 计算得平均回收率分别为 100.81% (RSD 为 2.71%)、104.90% (RSD 为 1.70%)、103.47% (RSD 为 0.96%)、101.07% (RSD 为 0.88%)、105.07% (RSD 为 1.53%)、100.40% (RSD 为 0.37%) ($n=5$)。

2.10 样品的测定: 取 I~VI 供试品溶液, 测定吸光度, 按回归方程计算黄酮, 结果分别为 0.366%、0.030%、23.82%、1.196%、25.84%、2.56%。

3 结论

本实验建立了紫外分光光度法测定丰城鸡血藤提取物中总黄酮的方法。实验表明, 本法具有操作简单、灵敏度高、准确度较好、试剂用量少、重现性好等优点, 用于丰城鸡血藤中总黄酮的测定, 结果满意。

References:

- [1] Cui Y J, Chen R Y. Progress of chemistry and pharmacology of *Caulis spatholobi* [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2001, 15 (4): 72-78.
- [2] Zhao Q F, Xia Q, Kong J, et al. Advances in studies of commercial *Spatholobus suberectus* (*Spatholobus*) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32 (5): 462-464.
- [3] Wang Z F, Han H L, Liu Y H. A research review of measurement of food flavonoids by high-performance liquid chromatograph [J]. *China West Cereals Oils Tech* (西部粮油科技), 2003 (5): 53-56.
- [4] Zhao D Z, Xu B M, Li K. Quantitative determination of total flavonoids in *Epimedium brevicornum* Maxim. by AlCl_3 complex spectrophotometry [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35 (2): 213-214.
- [5] Guo Y J, Fan L, Wang X Q, et al. Discussion about $\text{NaNO}_2\text{-Al}(\text{NO}_3)_3\text{-NaOH}$ colorimetry for determination of total flavonoids [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2002, 22 (2): 97-99.